

Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) EP 0 811 842 A1

(12) DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(43) Date de publication:
10.12.1997 Bulletin 1997/50

(51) Int Cl.⁶ G01N 33/18, G01N 21/64,
G01N 21/76

(21) Numéro de dépôt: 97470014.8

(22) Date de dépôt: 02.06.1997

(84) Etats contractants désignés:
AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC
NL PT SE

(72) Inventeur: Ory, Jean-Marie
57000 Metz (FR)

(30) Priorité: 03.06.1996 FR 9607016

(74) Mandataire: Schmit, Christian Norbert Marie
Cabinet Ballot-Schmit,
18 Place du Forum
57000 Metz (FR)

(71) Demandeur: Arnatronic Plus Sàrl
54530 Arnaville (FR)

(54) Capteur biologique et procédé de surveillance de la qualité de l'eau

(57) Le capteur comporte :

- un élément de canalisation (1) dans lequel l'eau peut circuler et dans la paroi duquel est ménagée une fenêtre (7) dans laquelle est placé un biosubstrat chlorophyllien (11), disposé entre une paroi de support (12) transparente et une membrane poreuse (10), en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation
- des moyens de mesure de l'activité métabolique du

biosubstrat, par mesure de la fluorescence chlorophyllienne ou mesure de la quantité d'oxygène généré par photosynthèse, disposés contre la dite paroi de support, et

- une source lumineuse principale (23) disposée de manière à éclairer le biosubstrat à travers la paroi de support.

Application à la détection en continu de la pollution de l'eau, notamment d'eaux urbaines ou de rivières.

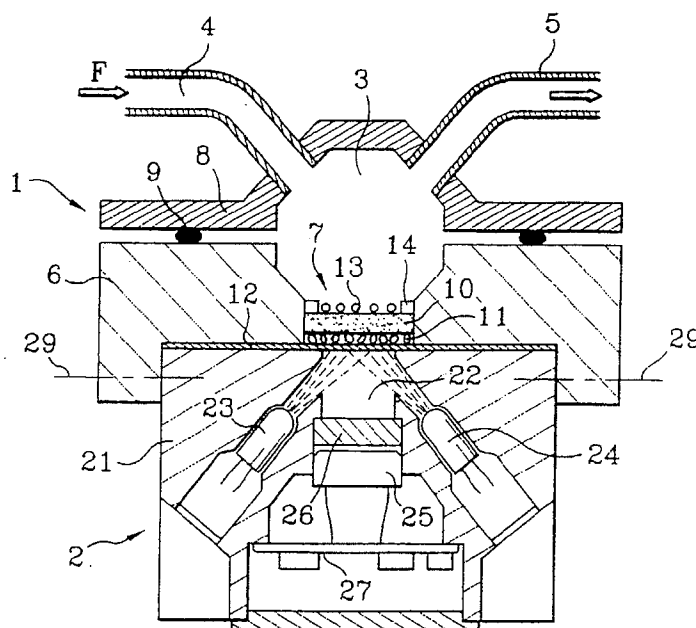


FIG.1

de température, etc., et une conduite de rejet de l'eau après son passage dans le capteur.

On notera que, grâce à l'utilisation d'une source lumineuse éclairant le biosubstrat à travers la dite paroi de support, et donc située du même côté de cette paroi de support que les moyens de mesure, tous les éléments nécessitant une connexion à une source électrique ou à un circuit de traitement des signaux fournis par les dits moyens de mesure peuvent être regroupés dans un même boîtier. Ce boîtier peut également intégrer l'électronique de traitement des signaux de mesure, évitant ainsi les problèmes de parasitage qui perturberaient ces signaux s'ils étaient transmis par câble à une électronique de traitement éloignée du capteur.

Préférentiellement, afin de faciliter la maintenance du capteur et en particulier pour permettre un remplacement aisé du biosubstrat, l'élément de canalisation comporte en face de la dite fenêtre une ouverture obturée par un chapeau étanche et facilement démontable, qui fournit un accès facile à la membrane poreuse et au biosubstrat.

L'invention a aussi pour objet un procédé de détection de la pollution d'une eau circulante caractérisé en ce qu'on place dans une fenêtre ménagée dans la paroi d'un élément de canalisation traversé par la dite eau un biosubstrat chlorophyllien, maintenu entre une membrane poreuse en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation et une paroi de support transparente, on dispose du côté de la dite paroi de support opposé à l'intérieur de la canalisation des moyens de mesure de l'activité métabolique du biosubstrat, on éclaire le dit biosubstrat à travers la dite paroi de support, et on mesure en permanence l'activité métabolique du biosubstrat, les variations des signaux fournis par les dits moyens de mesure étant représentatives de l'état de pollution de l'eau.

La mesure de l'activité métabolique du biosubstrat peut être réalisée soit par mesure de la quantité d'oxygène provenant de la photosynthèse du biosubstrat, soit par mesure de la fluorescence chlorophyllienne.

Dans le premier cas, les moyens de mesures sont préférentiellement constitués par un dispositif de type électrode de CLARK, mesurant la quantité d'oxygène dissous passant à travers la paroi de support, constituée alors d'un matériau perméable à l'oxygène mais imperméable à l'eau, tel que un film de PTFE. L'éclairage est appliqué par intermittence avec une période d'environ 1 minute par exemple (20 secondes d'éclairement, 40 secondes d'extinction). Dans ces conditions, on enregistre en continu la dérivée du signal de concentration d'oxygène fourni par les moyens de mesure, qui reflète l'activité photosynthétique du biosubstrat et permet donc de détecter la présence dans l'eau d'éléments polluants.

Dans le second cas, les moyens de mesure sont constitués par un détecteur de lumière tel qu'une photodiode qui mesure, dans la gamme du spectre lumineux rouge ou proche de l'infrarouge (préférentielle-

ment des longueurs d'onde supérieures à 650 nm), la fluorescence émise par le biosubstrat en réponse à une illumination modulée de ce biosubstrat, générée par une source lumineuse complémentaire, émettant par exemple sous une longueur d'onde de 470 nm. La modulation de l'illumination induit une fluorescence modulée du substrat chlorophyllien qui est détectée par la photodiode. Une démodulation synchrone du signal amplifié de la photodiode permet de s'affranchir de l'important bruit du signal généré par la photodiode en ne conservant que les éléments de ce signal correspondants à la modulation de la source lumineuse complémentaire. L'éclairage principal peut être commandé de manière à simuler des conditions d'éclairement naturel du jour ou de la nuit, ce qui permet de faire fonctionner la substance chlorophyllienne selon les deux modes métaboliques du cycle de Calvin. La source de lumière principale peut également être utilisée en mode pulsé pour provoquer des transitoires connus sous le nom de courbe de Kautski (qui représente la réponse en fluorescence d'un végétal à des variations brusques d'éclairement), et l'on détermine alors les paramètres caractéristiques de la courbe obtenue afin d'en déduire l'état métabolique du biosubstrat.

D'autres caractéristiques et avantages apparaîtront dans la description qui va être faite, à titre d'exemple, de deux modes de réalisation de l'invention, un premier mode étant basé sur la mesure de la fluorescence chlorophyllienne, le deuxième mode étant basé sur la mesure de la quantité d'oxygène généré par la photosynthèse.

On se reportera aux dessins annexés dans lesquels :

- la figure 1 est une vue en coupe d'un capteur correspondant au premier mode ;
- la figure 2 représente un capteur destiné au second mode.

Le capteur représenté figure 1 comporte un corps 1 constituant un élément de canalisation dans lequel l'eau à analyser circule selon les flèches F, et un fluorimètre 2 fixé sur le corps 1 de capteur à l'aide de vis de blocage, représentées seulement par leurs axes 29 (par exemple, trois vis disposées radialement à 120° suffisent à bloquer le fluorimètre sur le corps 1, tout en permettant de les séparer très facilement). Le corps 1 est préférentiellement réalisé en un matériau synthétique opaque, de préférence de couleur noire, par exemple en PVC ou Delrin. Le corps 1 comporte une chambre interne 3, ayant par exemple une section de forme polygonale, dans laquelle débouche un conduit 4 d'entrée d'eau et un conduit de sortie 5.

Le corps 1 est préférentiellement formé d'une base 6 dans la paroi de laquelle est ménagée une fenêtre 7 débouchant dans la chambre 3, et d'un chapeau 8 démontable sur lequel sont raccordés les conduits d'entrée et de sortie 4 et 5. Le chapeau 8 est maintenu sur

le biosubstrat et un brassage suffisant pour garantir une bonne diffusion des traces de polluants à travers le filtre poreux. On notera par ailleurs que la disposition du capteur représentée sur la figure, c'est à dire avec la fenêtre 7 située vers le bas de la chambre 3 permet d'éviter que des bulles ne viennent en contact avec le biosubstrat (ceci étant particulièrement important dans le cas de la deuxième variante utilisant une mesure d'oxygène dissous, qui sera décrite par la suite).

L'illumination du biosubstrat est réalisée par les diodes jaunes-ambre 23, comme indiqué préalablement, qui servent à générer le processus de photosynthèse. On notera à ce sujet que l'opacité du matériau du corps de capteur permet d'éviter toute influence parasite d'un éclairage extérieur aléatoire. Ces diodes peuvent également être utilisées en mode pulsé, avec une période de l'ordre de 15 secondes par exemple, pour générer les courbes de Kautski déjà mentionnées. Ces courbes se caractérisent par une brusque augmentation de la fluorescence d'un végétal, en réponse à un passage d'une obscurité maintenue suffisamment longtemps à un éclairage suffisamment intense. En présence d'eau propre, cette fluorescence décroît rapidement en quelques secondes ; par contre, en présence d'un polluant tel que l'Atrazine, cette fluorescence reste durablement à un niveau élevé. Ce mode d'éclairage pulsé permet donc de détecter et caractériser des polluants en fonction de leur effet sur le biosubstrat, par une analyse des caractéristiques des courbes de Kautski générées par traitement des signaux issus de la photodiode.

La mesure proprement dite de la fluorescence est effectuée par la photodiode, qui capte le rayonnement fluorescent issu du biosubstrat. La modulation du rayonnement fourni par les diodes bleues 24 (sous une fréquence de l'ordre du kHz) permet d'améliorer fortement la détection, car le signal de fluorescence est très faible et noyé dans le bruit global des signaux fournis par la photodiode. En extrayant, par une démodulation synchrone, du signal pré-amplifié de la photodiode les signaux correspondant à la fréquence de modulation des diodes bleues, on ne conserve alors que les signaux représentatifs de la fluorescence du biosubstrat modulée en accord avec la modulation de la source lumineuse. Par ailleurs, le filtre optique 26 étant quasiment parfaitement opaque au rayonnement des diodes lumineuses, la photodiode ne reçoit que les composantes du rayonnement correspondant à la fluorescence modulée, de longueur d'onde supérieure à 650 nm, à l'exclusion des rayonnements parasites provenant des sources lumineuses. On notera à ce sujet que l'utilisation d'un rayonnement de longueur d'onde voisine de 470 nm est particulièrement intéressant car ce rayonnement procure un rendement de fluorescence maximal du biosubstrat. On notera également que le but essentiel du filtre optique 26 et d'empêcher que le rayonnement modulé des diodes bleues 24 parvienne à la photodiode,

afin que, après la démodulation synchrone, le signal obtenu reflète uniquement la fluorescence chlorophyllienne. Il sert également à éviter que la photodiode reçoive un excès de lumière provenant de la source d'éclairage principal, susceptible de masquer le signal très faible de fluorescence. Pour améliorer encore la sensibilité de détection, on pourrait aussi filtrer la lumière émise par les diodes lumineuses avec un filtre ne passant pas les longueurs d'ondes supérieures à 650 nm, ou utiliser des sources de lumière polarisée pour éviter les réflexions des rayonnements autres que ceux de fluorescence.

Après le traitement de démodulation synchrone, le signal obtenu, représentatif en continu de la fluorescence chlorophyllienne du biosubstrat, peut subir de nombreux autres traitements ultérieurs aboutissant à l'affichage d'un graphique daté dans lequel les variations infimes de fluorescence et les dates de ces variations apparaissent clairement.

A titre d'exemple des résultats obtenus grâce au procédé et au capteur décrits précédemment, il a été possible de détecter de manière fiable des traces d'Atrazine ou de Diuron présentes dans l'eau à une concentration inférieure à 1 µg par litre.

Le dessin de la figure 2 représente un deuxième mode de réalisation du capteur, basé sur la mesure de l'oxygène généré par la photosynthèse du biosubstrat. Le capteur comporte un boîtier 30 fixé sur un élément de canalisation 31. Le boîtier 30 porte un détecteur 32 d'oxygène dissous, constitué de manière similaire à une électrode de Clark modifiée. Ce détecteur comporte une enveloppe opaque 33 de forme générale cylindrique, par exemple en PVC ou Delrin, à l'intérieur de laquelle est disposée coaxialement un porte-électrode 34 également cylindrique, par exemple en PVC transparent, dans lequel sont placées une ou plusieurs diodes lumineuses 40. Une chambre annulaire 35, ménagée entre le porte-électrode et l'enveloppe est remplie d'un électrolyte tel que KCl. L'enveloppe 33 est fermée à son extrémité par une paroi transparente à la lumière et perméable exclusivement à l'oxygène, telle qu'une membrane en PTFE 36. Le porte-électrode 34 s'étend jusqu'à proximité de cette membrane et porte sur sa paroi frontale une cathode 37, par exemple en or, formée d'une grille ou d'une spirale ou encore d'une feuille très mince d'or, de manière que cette cathode soit transparente à la lumière. Une anode 38 en argent est placée sur la paroi latérale du porte-électrode.

Une membrane poreuse 39 sur laquelle est déposée en couche mince un biosubstrat chlorophyllien 41 est fixée sur l'enveloppe 33 de manière à presser fermement le biosubstrat 41 contre le film de PTFE 36. Les dimensions du détecteur sont déterminées de manière que la membrane poreuse 39 soit sensiblement affleurante à la surface interne de la paroi de l'élément de canalisation, dans une fenêtre 42 ménagée à cet effet dans cette paroi.

Lors de la mise en oeuvre de ce capteur, l'eau cir-

2. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'élément de canalisation (1) comporte en face de la dite fenêtre (7) une ouverture obturée par un chapeau (8) étanche et facilement démontable. 5
3. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que la dite fenêtre est réalisée dans la paroi d'une chambre (3) dans laquelle débouchent un conduit d'entrée (4) et un conduit de sortie (5) de l'eau. 10
4. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que les moyens de mesure sont des moyens de mesure de la fluorescence chlorophyllienne du biosubstrat. 15
5. Capteur biologique selon la revendication 3, caractérisé en ce que les dits moyens de mesure comportent un boîtier (21) pourvu d'une ouverture (22) disposée face à la fenêtre (7), un détecteur de lumière (25) placé dans la dite ouverture et pourvu d'un filtre optique (26), pour mesurer la fluorescence du biosubstrat, une source lumineuse complémentaire (24) pour créer une illumination modulée du biosubstrat, et des moyens de traitement pour effectuer une démodulation synchrone du signal fourni par le détecteur. 20 25
6. Capteur biologique selon la revendication 3, caractérisé en ce que la source lumineuse principale est constituée de diodes luminescentes (23) placées dans le boîtier (21) et émettant à une longueur d'onde voisine de 550 nm, la source lumineuse complémentaire est formée de diodes émettant à une longueur d'onde voisine de 470 nm, les diodes étant disposées de manière que leur rayonnement soit dirigé vers le biosubstrat (11), et le filtre optique (26) est un filtre passant les longueurs d'ondes supérieures à environ 650 nm. 30 35 40
7. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que la paroi de support (36) est en un matériau perméable à l'oxygène mais imperméable à l'eau, et les moyens de mesure sont des moyens de mesure (32) de la quantité d'oxygène généré par la photosynthèse du biosubstrat et traversant la dite paroi de support, les dits moyens de mesure (32) comportant une enveloppe (33) entourant un porte-électrode (34) et ménageant entr'eux un espace annulaire (35) rempli d'électrolyte, le porte-électrode portant latéralement une anode (38) et, sur sa face frontale située à proximité de la paroi de support (36), une cathode (37) transparente aux rayonnements lumineux, la source lumineuse (40) étant située dans le dit porte-électrode. 45 50 55
8. Procédé de détection de la pollution d'une eau circulante caractérisé en ce qu'on place dans une fenêtre (7, 42) ménagée dans la paroi d'un élément de canalisation (1, 31) traversé par la dite eau un biosubstrat chlorophyllien (11, 41), maintenu entre une membrane poreuse (10, 39) en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation et une paroi de support transparente (12, 36), on dispose du côté de la dite paroi de support opposé à l'intérieur de la canalisation des moyens (2, 32) de mesure de l'activité métabolique du biosubstrat, on éclaire le dit biosubstrat à travers la dite paroi de support, et on mesure en permanence l'activité métabolique du biosubstrat, les variations des signaux fournis par les dits moyens de mesure étant représentatives de l'état de pollution de l'eau.
9. Procédé selon la revendication 8 caractérisé en ce que on éclaire le biosubstrat d'une part par un rayonnement de longueur d'onde voisine de 550 nm dans des conditions simulant un éclairage naturel, et d'autre part par un rayonnement modulé dans le temps de longueur d'onde voisine de 470 nm, de manière à induire une fluorescence modulée du biosubstrat, on mesure cette fluorescence par un détecteur de lumière (25) pourvu d'un filtre (26) arrêtant les longueurs d'onde inférieures à environ 650 nm, et on procède à une démodulation synchrone du signal fourni par le détecteur (25) de manière à déterminer le niveau de fluorescence du biosubstrat, lequel est représentatif de son activité métabolique.
10. Procédé selon la revendication 8 caractérisé en ce que la paroi de support est réalisée en un matériau perméable à l'oxygène mais imperméable à l'eau, et, pour déterminer l'activité métabolique du biosubstrat, on mesure les variations dans le temps de la quantité d'oxygène généré par la photosynthèse du biosubstrat et traversant la dite paroi de support.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande
EP 97 47 0014

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.6)
A	US 5 304 492 A (KLINKHAMMER GARY) 19 avril 1994 * colonne 4, ligne 6 - ligne 29 * * colonne 7, ligne 29 - colonne 8, ligne 33 * * figure 3 *	1,3,8	G01N33/18 G01N21/64 G01N21/76
A	DE 43 34 327 A (KERNFORSCHUNGSZ KARLSRUHE) 13 avril 1995 * page 3, ligne 8 - ligne 30 *	1,4,8	
A	DE 26 26 915 A (GESELLSCHAFT FÜR STRAHLEN-UND UMWELTFORSCHUNG) 24 février 1977 * revendication 1 *	1,4,8	
A	DE 25 60 064 C (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 1 décembre 1983 * colonne 2, ligne 7 - ligne 46 * * revendication 2; figure 1 *	1	
A	DE 34 12 023 A (BUEHLER EDMUND GMBH & CO) 10 octobre 1985 * revendications *	1,4,7,8	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6) G01N
P,X	ORY J -M ET AL: "A BIOSENSOR FOR WATER QUALITY MONITORING" JOINT PROCEEDINGS OF THE IEEE INSTRUMENTATION AND MEASUREMENT TECHNOLOGY CONFERENCE AND THE IMEKO TECHNICAL COMMITTEE 7, BRUSSELS, JUNE 4 - 6, 1996, vol. 2, 4 juin 1996, INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS, pages 1354-1359, XP000618144 * page 1355, colonne de gauche, alinéa 3 - * page 1356, colonne de gauche, alinéa 3 * * page 1357, colonne de droite, alinéa 3 - * page 1359, colonne de gauche, alinéa 2 * * figures 1,13 *	1,3-9	
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 10 septembre 1997	Examineur Krametz, E
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	